

植物病原菌の Polyase

小 沢 潤 二 郎

ペクチン質は複合多糖質ではなく、polygalacturon酸、araban, galactan 等が混合したものであると考えられるようになった。三山氏が落下生の種子から抽出した galactoaraban のような例は極めて稀である。柔組織の細胞膜はペクチン質の他に纖維素、ヘミセルローズのような多糖質や臘質物、含磷蛋白質等を含んでゐると考えられてゐる。柔組織に熱水や酵素を作用さす時、ガラクチュロン酸の他にアラビノーズ、ガラクトースが溶出する。この場合ペクチン質以外の多糖質がどんな変化を受けるかは分つてゐない。著者は数種の植物病原菌の菌糸抽出液の polyase に就て二三実験を行つたので茲に報告する。

I 植物病原菌の Polyase

酵素液の調製、玉葱エキス(玉葱 1. kg 水 2 l) に蔗糖 5 % NH_4NO_3 0.5 % K_2HPO_4 0.25 % NaH_2PO_4 0.25 % 添加した培養液を 150 ml. 容の三角瓶に 30 ml. 加え、二白金耳の菌糸を接種して 27°C に於て培養した。培養日数は *Rhizopus tritici* 2 日間、*Penicillium expansum* 5 日間、其他は 7 日間とした。培養後菌糸を水及酒精にて洗い、乾燥、粉碎し、菌糸の目方の 20 倍 (*R. tritici* のみ 40 倍) の水で 12 時間室温にて抽出し、濾過したものを酵素液とした。

基質の調製

アラバン-ガラグタン混合物 A. 温州蜜柑果皮より前報と同じ方法で調製したペクチンの 2 % 水溶液に $\text{N}/5 \text{ Ba}(\text{OH})_2$ 溶液を所要量よりやゝ過剰に添加し、2 日間室温に放置して鹼化し、 H_2SO_4 にて pH 7.0 となし、ペクチン酸バリウム及 BaSO_4 を濾別し、50°C に於て真空濃縮する。 H_2SO_4 にて pH 2.0 以下とし、濾過後 95 % 酒精を 15 倍量添加し、生成する沈澱を濾過し、90 % 酒精にて 3 回 95 % 酒精及エーテルにて各 1 回洗滌し、塩化石灰上にて真空乾燥した収量はペクチンに対して 16.3 %、Beaven 等⁽¹⁾ の方法に比較して約 6 倍の収量である。

アラバン-ガラクタン混合物 B. アラバン-ガラクタン混合物 A の 2 % 水溶液に H_2SO_4 を加えて 0.05 N とし、90°C に於て 3 時間加熱し、加水分解を受け易いアラバンを可及的に除去した後、 $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 及 BaCO_3 にて SO_4^{--} を除く。以下アラバン-ガラクタン混合物 A の場合と同様、濃縮し、 BaSO_4 を除去した後、酒精にてアラバン-ガラクタン混合物 B を沈澱せしめ、洗滌後乾燥せしめる。

ヒドラートセルローゼ、基質として分散液を用いた。

キシラン、日比野⁽²⁾の方法によつて調製した稻藁キシラン粉末を溶解せしめて用いた。

大根ヘミセルローズ、大根粉末を蓆酸アンモンにて完全にペクチンを除き 4 % NaOH 溶液にて室温に於ヘミセルローズを抽出した。調製した粉末ヘミセルローズは熱水に溶解して実験に使用した。

反応液の組成及條件を次の通りにした。即ち 1 % 基質溶液 13.3 ml, Michaelis の acetate buffer 1.0 ml, 酵素液 3.0 ml, 水を加えて全容を 20 ml とす。pH 5.0, 35°C. 但しヒドラートセルローゼは 0.64 % の分散液を用い、*R. tritici* の酵素液は 1.5 ml を加えた。反応液 2.0 ml

を取つて還元糖を定量した。結果を第1表に示した。

第1表の結果が示すように殆ど全部の菌種が polygalacturonase, arabanase, galactanase, xylanase, cellulase を生産する。ペクチン質の含有量の少い禾本科植物を侵害する病原菌が特に pectinase が少く xylanase 或は cellulase が多いとは言えないようである。

第 1 表

	作業時間	基質						
		ペクチン酸 F	アラバン及ガラクトサン混合 物 A	アラバン及ガラクトサン混合 物 B	ヒドラー トセルロ ーゼ	キシラン	大根ヘミ セルロー ズ	セロビ オース
R. tritici	12	0.60	0.11	0.19	0.09	0.05	0.07	0.14
	23	0.83	0.18	0.32	0.16	0.08	0.12	0.21
	48	1.10	0.28	0.45	0.20	0.13	0.19	0.30
P. expansum	12	0.65	0.08	0.10	0	9.02	0.11	0.10
	23	1.23	0.15	0.18	0	0.04	0.19	0.18
	48	2.24	0.29	0.32	0	0.09	0.33	0.31
Sclerotinia cinerea	12	0.36	0.52	0.71	0.05	0.12	0.11	0
	22	0.67	0.86	1.17	0.09	0.20	0.19	0
	46	1.06	1.16	1.85	0.12	0.43	0.43	0
Gloeosporium kawakamii	12	0.40	0.24	0.31	0.19	0.17		
	22	0.71	0.43	0.50	0.35	0.23		
	46	1.14	0.69	0.92	0.48	0.36		
Alternaria kikuchiana	12	0.51	0.66	0.79	0.38	0.71		
	21	0.94	0.91	1.18	0.48	1.08		
	48	1.85	1.61	1.85	0.58	1.52		
Piricularia oryzae	12	0.02	0.09	0.26	0.10	0.11		
	24	0.02	0.17	0.48	0.17	0.18		
	46	0.03	0.30	0.69	0.21	0.29		
Gibberella Saubinetti	12	0.02	0.10	0.08	0.10	0.05		
	22	0.04	0.18	0.14	0.16	0.09		
	48	0.05	0.30	0.27	0.20	0.14		
Helminthosporium Oryzae	12	1.98	0.35	0.31	0.37	0.13		
	24	3.08	0.52	0.46	0.60	0.19		
	48	4.71	0.69	0.60	0.78	0.24		

II Gloeosporium kawakamii 及 Rhizopus tritici の protopectinase

Gloeosporium kawakamii 及 Rhizopus tritici の菌糸抽出液に就て、粘度の下降によつて測定した pectinase の活力を大体同じにして protopectinase の作用を比較した。

反應液の組成及條件は次の通りである。pectinase の場合は 2% ペクチン酸 F 溶液 6.6ml, acetate buffer (pH 5.0) 又は 0.4N 蓚酸アンモン・蓚酸混合液 (pH 5.0) 2.0ml, *G. kawakamii* の酵素液 6.0ml 又は *R. tritici* の酵素液 1.5ml, 水を加えて全容を 20ml とする。pH 5.0 35°C. protopectinase の場合は acetate buffer (pH 5.0) 又は 0.4N 蓚酸アンモン・蓚酸混合液 (pH 5.0) 2.0ml, 酵素液として、(a) *G. kawakamii* 6.0ml (b) *R. tritici* 1.5ml (c) *G. kawakamii* 6.0ml + *R. tritici* 1.5ml, 水を加えて 20ml とし pH 5.0, 35°C に於て馬鈴薯切片に対する protopectinase の作用を検する。第 2 表にその結果を示した。

第 2 表

		粘 度 の 下 降 4hr.	9hr.	maceration の程度 6hr. 12hr.
<i>G. kawakamii</i>	acetate buffer	0.305(0.51)	0.442(1.14)	±
	0.4 N 蓚酸アンモン蓚酸混合液	0.233	0.376	+
<i>R. tritici</i>	acetate buffer	0.313(0.36)	0.425(0.54)	++(+)
	0.4 N 蓚酸アンモン蓚酸混合液	0.248	0.392	+++
<i>G. kawakamii</i> + <i>R. tritici</i>	acetate buffer			++
	0.4 N 蓚酸アンモン蓚酸混合液			+++

註 両菌種共 pectin-esterase なし。() 内は還元力の増加を 2ml に対する I_2 消費量 ml で以て示した。

第 7 報に於て *R. tritici* 及 *P. expansum* の菌糸抽出液を用いて実験し、粘度によつて測定した pectinase の活力と protopectinase 作用の強さが平行するように述べた。しかし第 12 報では、トマトの酵素液は粘度より測定した pectinase の活力が大であるにも拘らず、protopectinase の作用のない事が認められた。又第 2 表の結果では、粘度より測定した pectinase の活力を大同体じように調節して比較した場合、*R. tritici* の方が *G. kawakamii* より protopectinase の作用が強い。蓚酸アンモンを添加した場合も同様な結果であつた。従つて第 7 報の推論は誤りであり、粘度より測定した pectinase の活力と protopectinase 作用の強さとは必ずしも平行するとは限らない。しかし protopectinase の作用は不均質反應である爲、之より簡単に、protopectinase と pectinase は異つた酵素であるという結論は出ないと思う。

第 1 表に於て、pectinase 以外の polyase は *R. tritici* よりも *G. kawakamii* の方が活力が大きい。第 2 表に於て、*R. tritici* の酵素液単独の場合と *R. tritici* + *G. kawakamii* の場合を比較する時、protopectinase の強さにはあまり顯著な距りがないようである。従つて pectinase 以外の polyase は、少くとも單期間に maceration が起る場合には protopectinase 作用に対して著しい影響は及さないように思う。

終りに終始御懇切な御指導を賜つた片桐英郎先生並に菌株を惠與下さつた当研究所長西門先生に感謝の意を表す。

文 献

- 1) Beaven, G. H., Hirst, E. L. and Jones J. K. N., J. Chem. Soc. (1939) 1865
日、化、誌、51 (昭和 5 年) 423

2) 日比野、